

**EFEK KOMBINASI *TEA TREE OIL* (*Melaleuca alternifolia*) DENGAN
EKSTRAK BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP *Candida albican*
*IN VITRO***



Atika Nur Windi

G0006048

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

2010

commit to user

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi dengan judul: Efek Antijamur Kombinasi *Tea Tree Oil* (*Melaleuca alternifolia*) dengan Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*) terhadap *Candida albican* *In vitro*

Atika Nur Windi, G0006048, Tahun 2010

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan **Dewan Penguji Skripsi**
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta
Pada hari Selasa, 9 November, Tahun 2010

Pembimbing Utama

Nama : Darukutni, dr., Sp.Park., M.Kes
NIP : 19470809 197603 1 001

Pembimbing Pendamping

Nama : Sutartinah Sri Handayani, Dra.
NIP : 19600709 198601 2 001

Penguji Utama

Nama : Paramasari Dirgahayu, dr., Ph.D
NIP : 19660421 199702 2 001

Penguji Pendamping

Nama : Lilik Wijayanti, dr., M.Kes
NIP : 19690305 199802 2 001

Surakarta,

Ketua Tim Skripsi

Dekan FK UNS

Muthmainah, dr., M.Kes
NIP:1966072 199802 2 001

Prof. Dr. AA. Subijanto, dr., MS
NIP: 19481107 197310 1 003

commit to user

Pernyataan

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka



Surakarta, 3 November 2010

Atika Nur Windi.
NIM. G0006048

ABSTRAK

Atika Nur Windi, G0006048, 2010. Efek Antijamur Kombinasi *Tea Tree Oil* (*Melaleuca alternifolia*) dengan Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*) terhadap *Candida albican* *In vitro*. **Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.**

Tujuan Penelitian : *Tea Tree Oil* (*Melaleuca alternifolia*) atau TTO menghambat pertumbuhan *Candida albican* karena kandungan *terpenoid* yang merusak membran sel jamur. Ekstrak jinten hitam (*Nigella sativa*) juga menghambat pertumbuhan *Candida albican* karena kandungan *thymoquinon* yang menghambat germinasi konidia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek antijamur kombinasi TTO (*Melaleuca alternifolia*) dengan ekstrak jinten hitam (*Nigella sativa*) terhadap *Candida albican* *In vitro*

Metode Penelitian: Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium. Subjek penelitian adalah biakan *Candida albican* murni yang diambil secara *random sampling* kemudian disetarakan sehingga ekuivalen dengan 0,5 Mc Farland, jamur ditanam dalam *Saboraud Dextrose Agar* lalu diberi 5 perlakuan berbeda. Kelompok 1 (K1) diberi etanol 70% sebagai kontrol negatif, K2 diberi flukonazol 25µg sebagai kontrol positif, K3 dan K4 masing-masing diberi TTO 50% dan ekstrak *Nigella sativa* 50%, K5 diberi larutan kombinasi TTO 50% dan ekstrak *Nigella sativa* 50%. Semua cawan petri diinkubasi dengan suhu 35°C selama 24 jam. Pada hari ke-2 diameter zona hambatan diukur. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji nonparametrik *Kruskall Wallis*, dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* menggunakan program *SPSS for Windows Release 18.0*.

Hasil Penelitian: Hasil penelitian menunjukkan rata-rata diameter zona hambatan (K1) 0 mm, (K2) 19,8 mm, (K3) 20,05 mm, (K4) 18,67 mm, (K5) 21,48 mm. Hasil uji *Kruskall Wallis* menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Uji *Mann Whitney* menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara (K5) dengan semua kelompok perlakuan ($p < 0,05$).

Simpulan penelitian: Kombinasi TTO dengan ekstrak *Nigella sativa* memiliki efek antijamur yang lebih baik daripada TTO maupun ekstrak *Nigella sativa* tanpa kombinasi.

Kata Kunci: TTO, ekstrak *Nigella sativa*, *Candida albican*

ABSTRACT

Atika Nur Windi. G0006048, 2010. The Combination Effect of Tea Tree Oil (*Melaleuca alternifolia*) and *Nigella sativa* Extract against *Candida albican* In vitro. Faculty of Medicine. Sebelas Maret University, Surakarta.

Objective: Tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) or TTO inhibits the growth of *Candida albican* as its terpenoid contents which is known as the potent compound against yeast. So does *Nigella sativa* seed extract because of its thymoquinon content that inhibits conidial germination. The objective of this research is to determine the combination effect of TTO and *Nigella sativa* extract against *Candida albican* in vitro.

Methods: 48 hours old *Candida albican* which is taken by random sampling was adjusted to 0.5 Mc Farland. The yeast suspension was then inoculated in Saboraud Dextrose Agar plate. The research was continued by giving 5 different treatments to the inoculated *Candida albican*. (K1)-the first group- was treated by ethanol 70% as negative control, (K2) was treated by fluconazole 25µg as positive control, (K3) and (K4) were treated by TTO 50% and *Nigella sativa* extract 50%, (K5) was treated by the combination of TTO 50% and *Nigella sativa* extract 50%. After those treatments the plates were incubated at 35°C for 24 hours, then the diameters of inhibition zone were measured. The data was collected and analyzed by Kruskall Wallis Test and Mann Whitney test on SPSS 18.0 for Windows.

Result: The result of the measurement showed the means of the diameter of inhibition zone from (K1)-(K5) are 0 mm, 19.8 mm, 20.05 mm, 18.67 mm, and 21.48 mm. The Kruskall Wallis Test showed there was significant difference between all of the groups ($p < 0.05$). And The Mann Whitney test showed there was significant difference of (K5) compared by all of the groups.

Conclusion: The combination of TTO and *Nigella sativa* extract has better anticandida activity than both without combination.

Keywords: TTO, *Nigella sativa* extract, *Candida albican*

PRAKATA

Alhamdulillahirabbilalamin, puji syukur ke hadirat Allah Azza wa Jalla Tuhan Seru Sekalian Alam yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis bisa menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Efek Kombinasi *Tea Tree Oil (Melaleuca alternifolia)* dengan Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*) terhadap *Candida albican In Vitro*”.

Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis tidak terlepas dari berbagai hambatan dan kesulitan. Namun berkat bimbingan dan bantuan berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikannya. Untuk itu penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. A.A. Subijanto, dr., MS., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Muthmainah, dr., M.Kes. selaku Ketua Tim Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Darukutni dr., Sp. Park., M.Kes selaku Pembimbing Utama yang dengan penuh kesabaran meluangkan waktunya, bimbingan, saran, koreksi, dan nasehat kepada penulis.
4. Sutartinah Sri Handayani Dra. selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan saran, bimbingan, dan koreksi kepada penulis.
5. Paramasari Dirgahayu dr., Ph.D selaku Penguji Utama yang telah berkenan menguji sekaligus mengoreksi dan member saran pada penulis.
6. Lilik Wijayanti dr., M.Kes selaku Penguji Pendamping yang telah berkenan menguji dan memberikan saran yang berarti untuk penulisan skripsi ini.
7. Segenap Staf Skripsi, Staf Laboratorium Parasitologi FK UNS dan Staf Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi atas segala bantuan dan kerjasamanya dalam penyusunan skripsi ini.
8. Rasa hormat dan ucapan terima kasih kepada papa dan mama, nenek, Yasmin, Upik, Hilya, dan Fiki di rumah, serta semua orang yang tak bisa penulis sebutkan satu per satu atas segala doa dan dukungan semangat sehingga skripsi ini bisa terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi ilmu kedokteran pada khususnya dan masyarakat pada umumnya.

Surakarta, 3 November 2010

Penulis

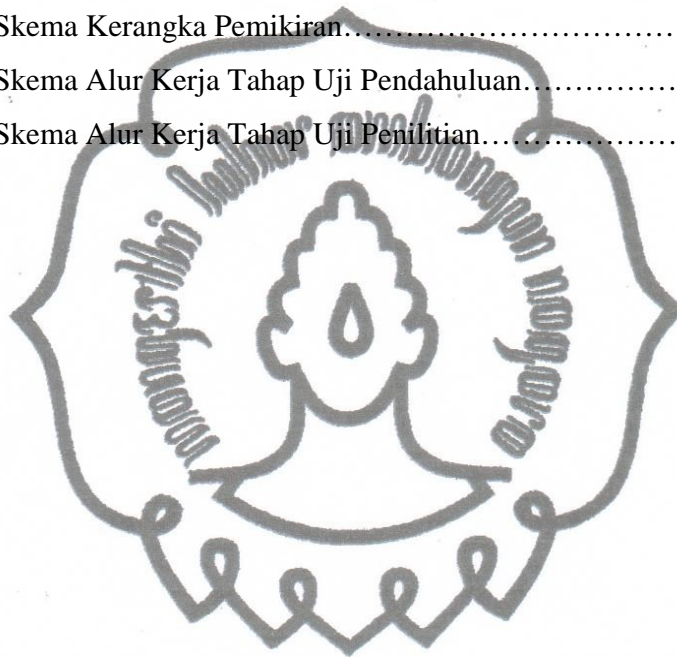
DAFTAR ISI

PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GRAFIK.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka.....	6
1. <i>Melaleuca alternifolia</i>	6
2. <i>Nigella sativa</i>	9
3. <i>Candida albican</i>	13
B. Kerangka Pemikiran.....	22
C. Hipotesis.....	23
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian.....	24
B. Lokasi Penelitian.....	24
C. Waktu Penelitian.....	24
D. Subjek Penelitian.....	24
E. Teknik Sampling.....	25
F. Identifikasi Variabel.....	25
G. Skala Variabel.....	26
H. Definisi Operasional Variabel.....	26

I. Instrumen Penelitian.....	28
J. Cara Kerja Penelitian.....	29
1. Tahap Persiapan.....	29
2. Tahap Uji Pendahuluan.....	34
3. Tahap Penelitian.....	35
K. Desain Penelitian.....	38
L. Teknik Analisis Data.....	40
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	41
A. Hasil Penelitian.....	41
B. Analisis Data.....	44
BAB V PEMBAHASAN.....	48
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN.....	53
A. Simpulan.....	53
B. Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA.....	54
LAMPIRAN.....	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1: Pohon Kayu Putih (<i>Melaleuca alternifolia</i>).....	7
Gambar 2: Biji Jinten Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	11
Gambar 3: <i>Candida albican</i>	13
Gambar 4: Skema Kerangka Pemikiran.....	22
Gambar 5: Skema Alur Kerja Tahap Uji Pendahuluan.....	38
Gambar 6: Skema Alur Kerja Tahap Uji Penelitian.....	39



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komposisi Kandungan <i>Melaleuca alternifolia</i>	8
Tabel 2. Diameter Zona Hambatan Hasil Uji Pendahuluan.....	41
Tabel 3. Diameter Zona Hambatan Tahap Penelitian.....	42
Tabel 4. Hasil Perhitungan Uji Kruskal Wallis.....	44
Tabel 5. Hasil Perbandingan Data Antarkelompok Perlakuan.....	45



DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Diagram Rata-Rata Diameter Zona Hambatan.....	43
--	----



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1.** Tabel; Rata-Rata dan Simpangan Baku Diameter Zona Hambatan
- Lampiran 2.** Uji Normalitas Data
- Lampiran 3.** Uji Homogenitas Data
- Lampiran 4.** Uji Statistik Kruskall Wallis Diameter Zona Hambatan
- Lampiran 5.** Uji Statistik MannWhitney Diameter Zona Hambatan
- Lampiran 6.** Komponen *Tea Tree Oil*
- Lampiran 7.** Komponen Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*)
- Lampiran 8.** Dokumentasi Penelitian
- Lampiran 9.** Surat Bukti Pembuatan Ekstrak
- Lampiran 10.** Surat Bukti Pemesanan Minyak Atsiri
- Lampiran 11.** Surat Bukti Penelitian

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit *candidiasis* merupakan infeksi oportunistik yang umum pada tubuh yang disebabkan oleh pertumbuhan jamur genus *Candida* secara berlebihan (Chami *et al.*, 2004). Di antara berbagai macam spesies *Candida*, yang paling sering adalah *Candida albicans*. Koloni *Candida albicans* dikenal sebagai salah satu flora normal yang biasa ditemukan dalam saluran pencernaan dan organ reproduksi. Pada 80% individu sehat *Candida albicans* bisa ditemukan tanpa gejala klinis. Sifat komensalisme ini bisa berubah menjadi infeksi ketika terjadi perubahan pada *microenvironment*, atau pertahanan tubuh yang inadekuat (Bagtzoglou and Fidel, 2005).

Penyakit ini bisa terjadi di seluruh dunia, dapat menyerang semua umur, baik laki-laki maupun perempuan. Gambaran klinisnya bermacam-macam sehingga tidak diketahui data-data penyebarannya dengan tepat (Kuswadji, 2007).

Manifestasi klinis yang terjadi bisa ringan berupa infeksi *Candida* pada mulut atau *oral candidiasis*, infeksi *Candida* pada kulit atau *cutaneous candidiasis*, dan keputihan karena jamur atau *vaginal candidiasis*. Angka kesakitan *vaginal candidiasis* sangat tinggi, satu dari tiga wanita di Jawa

Tengah pernah mengalaminya dan 5% dari mereka akan mengalami infeksi berulang (Depkes, 2006).

Vaginal candidiasis ini sering dihubungkan dengan penyakit diabetes melitus, terapi antibiotik, terapi kortikosteroid, dan kehamilan, tetapi kejadian *vaginal candidiasis* tanpa faktor predisposisi di atas juga bisa terjadi (Chami *et al.*, 2004).

Selain itu infeksi *Candida albican* bisa menimbulkan manifestasi yang sangat berat bila menyerang individu *immunocompromised* dan atau dengan manifestasi *invasive candidiasis*, yaitu penyebaran infeksi *Candida* melalui pembuluh darah ke seluruh tubuh. Mortalitas dari *invasive candidiasis* bisa mencapai 54%, bahkan beberapa tahun terakhir *invasive candidiasis* menempati peringkat ke-empat penyebab infeksi nosokomial di Amerika Serikat (Grubb *et al.*, 2008).

Obat standar yang digunakan untuk mengatasi *candidiasis* adalah ketokonazol, flukonazol, dan itrakonazol. Namun obat-obatan anti jamur tersebut ada kalanya menyebabkan efek samping yang tidak menyenangkan, yaitu gangguan *gastrointestinal*, sakit kepala, dan lain-lain. Efek samping yang berat adalah hepatotoksisitas dari ketokonazol yang digunakan lebih dari 3 minggu (Lynch, 1994). Kenyataan tersebut di atas mengindikasikan perlunya dilakukan pengembangan yang lebih baik terhadap penanganan infeksi *C. albican*.

Baru-baru ini tren dalam menggunakan tanaman obat tradisional (herbal) sebagai pilihan pengobatan dan diet makanan sehari-hari kembali mengemuka, karena obat tradisional terbukti relatif aman asalkan cara penggunaannya benar dengan dosis dan indikasi yang tepat, serta jarang menimbulkan efek samping yang berat (Evans, 2002).

Salah satu dari obat tradisional yang sedang berkembang adalah minyak atsiri kulit batang kayu putih (*Melaleuca alternifolia*) yang dikenal sebagai *tea tree oil*. Sebelum perkembangan obat-obat antijamur tradisional *tea tree oil* ini sering digunakan dalam campuran kosmetik untuk mengatasi jerawat karena kemampuannya menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acne*. TTO ini mengandung zat aktif utama *monoterpen*, *sesquiterpen*, dan turunan senyawa alkohol yang diduga menyebabkan peningkatan permeabilitas sel, menghambat asidifikasi media, dan menghambat rantai respirasi sel jamur *Candida albican* (Hammer *et al.*, 2001, 2004; Mondello, 2006).

Tanaman obat lain yang juga memiliki efek antijamur khususnya *Candida albican* adalah ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*). *Nigella sativa* juga mengandung senyawa-senyawa *terpen* seperti halnya *tea tree oil* dengan kadar yang lebih rendah, tapi juga mengandung *thymoquinon* dalam ekstraknya yang mampu menghambat germinasi konidia (Al-Jabre *et al.*, 2009). *Thymoquinon* ini tidak terdapat dalam TTO, sehingga bila

ditambahkan dalam minyak atsiri tersebut maka *thymoquinon* ini berpotensi melengkapi kemampuan TTO dalam menghambat pertumbuhan *Candida albican*. Namun penelitian mengenai kombinasi dua tanaman obat ini belum diperoleh dalam referensi.

Dari uraian di atas, peneliti menganggap perlu melakukan penelitian untuk mengetahui apakah ada peningkatan potensi antijamur minyak atsiri kulit batang kayu putih (*Melaleuca alternifolia*) dengan penambahan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Candida albican in vitro*.

B. RUMUSAN MASALAH

Bagaimana efek kombinasi antijamur TTO (*Melaleuca alternifolia*) dengan Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Candida albican In vitro*?

C. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek kombinasi antijamur TTO (*Melaleuca alternifolia*) dengan Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Candida albican in vitro*?

D. MANFAAT PENELITIAN

1. Aspek Teoritik

- a. Menambah pengetahuan dalam bidang fitofarmaka

- b. Memberikan data mengenai efek kombinasi antijamur TTO (*Melaleuca alternifolia*) dengan Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Candida albican in vitro*.
- c. Menjadi salah satu referensi untuk penelitian-penelitian mengenai herbal antijamur selanjutnya.

2. Aspek Aplikatif

- a. Memberikan informasi kepada masyarakat ilmiah pada khususnya dan masyarakat luas pada umumnya efek kombinasi antijamur TTO (*Melaleuca alternifolia*) dengan Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Candida albican In vitro*
- b. Diharapkan menjadi bahan pertimbangan dalam memilih tanaman obat dalam terapi *candidiasis*.

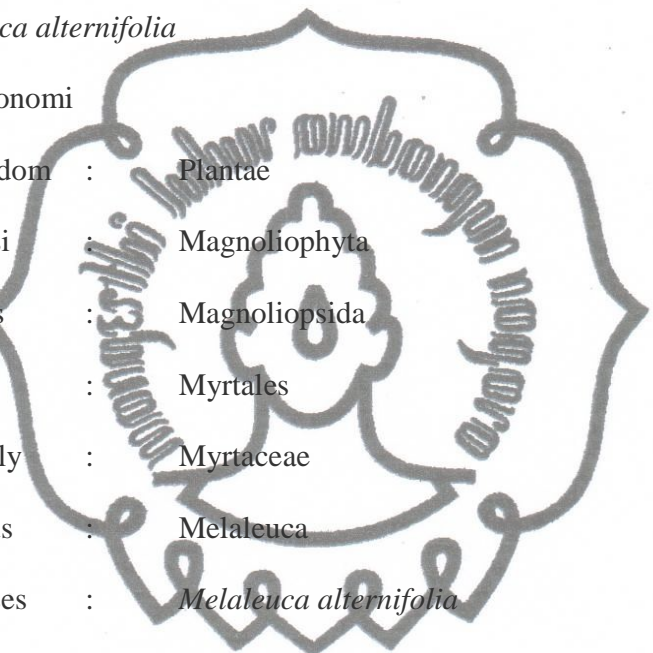
BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. *Melaleuca alternifolia*

a. Taksonomi



Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Magnoliopsida
Ordo	:	Myrtales
Family	:	Myrtaceae
Genus	:	<i>Melaleuca</i>
Speises	:	<i>Melaleuca alternifolia</i>

(Depkes RI, 2006)

b. Nama Lain

Melaleuca, *tea tree*, *Manuka* (Wong, 2007)

Kayu putih

c. Morfologi Tanaman

1) Batang

Bentuk batang tegak dan bulat. Konsistensinya keras dengan permukaan halus dan berwarna putih abu-abu.

2) Daun

Tipe daun tunggal berseling dan berwarna hijau. Panjang daun 2-3 cm, dengan lebar 0,1-0,2 cm. Pertulangan daun membujur, daging daun tipis dan permukaannya halus.

3) Bunga

Tipe bunga majemuk dan tidak bertangkai. Mahkota bunga sebanyak 5 helai, berbentuk bulat telur dan berwarna putih.

4) Akar

Tipe akar tunggang dan berwarna coklat.

(Depkes RI, 2006)



Gambar 1. Pohon *Melaleuca alternifolia*

(Sumber: http://toptropicals.com/html/toptropicals/catalog/photo_db)

d. Kandungan Kimia dan Aktivitas Antijamur

TTO mengandung zat aktif utama *monoterpen*, *sesquiterpen*, dan turunan senyawa aromatik yang diduga menyebabkan peningkatan

commit to user

permeabilitas sel dan menghambat penurunan pH lingkungan (Hammer *et al.*, 2004). *Terpen* dalam TTO adalah senyawa hidrokarbon aromatik yang bersifat volatil, dan termasuk golongan polimer *isoprene*. Secara terperinci kandungan dari *Melaleuca alternifolia* adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Komposisi kandungan *Melaleuca alternifolia*

Component	Percentage	Component	Percentage
1. terpinen-4ol	41.5	9. aromadendrene	1.0
2. γ -terpinene	21.2	10. δ -cadinene	1.0
3. α -terpinene	10.2	11. limonene	0.9
4. terpinolene	3.5	12. ledene	0.9
5. α -terpineol	2.9	13. globulol	0.6
6. α -pinene	2.5	14. sabinene	0.4
7. 1,8-cineole	2.1	15. viridiflorol	0.3
8. p-cymene	1.5		

Di antara substansi-substansi kimia di atas yang diduga memiliki efek antijamur adalah *terpinen-4ol*, *α terpinene*, *α pinene*, *1,8 cineole*, dan *thymol*. Berdasarkan penelitian Paduch *et al.* (2007), mekanisme antijamur dari senyawa-senyawa ini kurang lebih sama, yaitu:

- 1) Mempengaruhi struktur membran, meningkatkan permeabilitas membran, dan mengganggu struktur protein membran.
- 2) Mengganggu rantai respirasi sel jamur.
- 3) Menghambat transformasi dari bentuk coccus menjadi filamen.

4) Menghambat sintesis ergosterol

Hammer *et al.*, (2004) menambahkan adanya aktivitas inhibisi asidifikasi medium pertumbuhan *Candida albican*. Medium asam ini sangat dibutuhkan untuk menjaga kelangsungan hidup *Candida albican* patogen.

Hammer *et al.* (2004) juga menyebutkan komponen TTO yang paling kuat menghambat pertumbuhan *Candida albican* adalah *terpinen 4-ol*, *terpinen 4-ol* ini merupakan komponen yang paling banyak dalam minyak atsiri kulit batang *Melaleuca alternifolia*. Mekanisme kerjanya terutama adalah meningkatkan permeabilitas membran *Candida albican* dan menghambat asidifikasi medium pertumbuhannya.

2. *Nigella sativa*

a. Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Klass	: Magnoliopsida
Ordo	: Ranunculales
Famili	: Ranunculaceae
Genus	: <i>Nigella</i>
Spesies	: <i>Nigella sativa</i>

(Budipranoto, 2009)

b. Nama lain

India	: Kalonji
Rusia	: Chamuska
Arab	: Habbatus Sauda'
Persia	: Siyah Daneh
Inggris	: Black Carraway, Nutmeg Flower
Indonesia	: Jinten Hitam

(Styaningrum, 2007)

c. Morfologi Tanaman

Nigella sativa atau jinten hitam ini merupakan jenis tanaman bunga, tumbuh setinggi 20-50 cm, berbatang tegak, berkayu.

Bentuk daunnya runcing, kadang-kadang tunggal atau bisa juga majemuk dengan posisi tersebar atau berhadapan. Bentuk daunnya bulat telur berujung lancip. Di bagian permukaan daunnya terdapat bulu halus.

Tumbuhan jinten hitam memiliki bunga yang bentuknya beraturan. Bunga ini kemudian menjadi buah berbentuk bulat panjang. Bunganya menarik dengan warna biru pucat atau putih, dengan 5-10 mahkota bunga.

Buahnya keras, berbentuk besar, menggembung, berisi 3-7 unit folikel, masing-masing berisi banyak biji atau benih yang sering digunakan manusia sebagai rempah-rempah. Memiliki rasa pahit yang tajam dan bau seperti buah strawberry (Styaningrum, 2007).

Bijinya berwarna hitam pekat, ukurannya kecil dan pendek (panjang antara 1-2 mm), berbentuk trigonal, memiliki rasa yang kuat dan pedas seperti lada (Hermawan, 2008).



Gambar 2. Biji jinten hitam (*Nigella arvensis*)

(Sumber: <http://commons.wikimedia.org>)

d. Kandungan Kimia dan Aktivitas Antifungal

Nigella arvensis kaya akan kandungan nutrisi monosakarida (molekul gula tunggal) dalam bentuk glukosa, xylose, dan arabinose yang dengan mudah dapat diserap oleh tubuh sebagai sumber energi, juga mengandung nonstarch polisakarida yang berfungsi sebagai sumber serat yang sangat berguna untuk diet. *Nigella arvensis* juga mengandung asam amino pembentuk protein, di antaranya asam amino esensial yang sangat diperlukan oleh tubuh. Di antara asam lemak esensial tersebut terdapat asam lemak esensial tak jenuh (asam linoleic dan linolenic) sebagai pembentuk sel yang tidak dapat dibentuk sendiri dalam tubuh (Hermawan, 2008).

Berikut ini adalah beberapa senyawa aktif dalam ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) yang telah terbukti efektif menghambat pertumbuhan *Candida albican*:

1) *Thymoquinone*

Thymoquinone adalah *monoterpenoid keton* yang terdapat dalam ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*). *Thymoquinone* ini terbukti memiliki efek inhibisi terhadap *Candida* (Abu Al-Basal, 2009) dan *dermatophyta* (Al-Jabre *et al.*, 2005). Mekanisme penghambatannya adalah dengan menghambat germinasi konidia (Al-Jabre *et al.*, 2009).

2) *Thymol* dan *carvacrol*

Thymol dan *carvacrol* merupakan salah satu senyawa golongan *terpene* yang banyak diproduksi oleh bermacam-macam jenis tumbuhan, bahkan ditemukan dalam buah-buahan. Kandungannya dalam ekstrak biji *Nigella sativa* sebanyak 26,8 % (Moretti *et al.*, 2004; Pinto *et al.*, 2006).

Mekanisme antijamur kedua senyawa ini adalah:

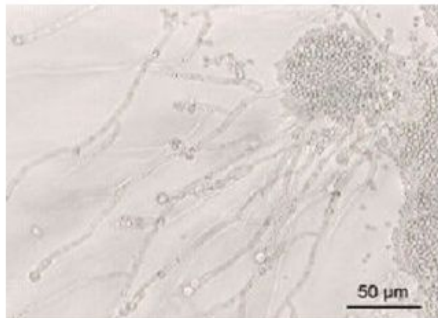
- a) Menghambat sintesis ergosterol (Pinto *et al.*, 2006)
- b) Menghambat transformasi dari bentuk *coccus* menjadi filamen (Paduch *et al.*, 2007).
- c) Meningkatkan permeabilitas membran, merubah topologi protein membran, dan mengganggu rantai respirasi (Paduch *et al.*, 2007).

3. *Candida albican*

a. Taksonomi

Kingdom : Fungi
Phylum : Ascomycota
Subphylum : Saccharomycotina
Class : Saccharomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Family : Saccharomycetaceae
Genus : *Candida*
Spesies : *Candida albicans*

(Hendrawati, 2008)



Gambar 3. *Candida albican* (Hendrawati, 2008)

b. Sinonim

Candida stellatoidea dan *Oidium albicans* (Hendrawati, 2008)

c. Morfologi dan Identifikasi

commit to user

Candida albican merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa semu. Perbedaan bentuk ini tergantung pada faktor eksternal yang mempengaruhinya (Hendrawati, 2008).

Bentuk khamir membuat *Candida albicans* lebih mudah melakukan penyebaran daripada bentuk hifa, sementara bentuk hifa memudahkan *Candida albicans* melakukan penetrasi ke tubuh inang (Sherwood *et al.*, 1992). Perubahan bentuk khamir ke hifa sangat dipengaruhi oleh lingkungan mikro sel inang selama proses invasi. (Brown and Gow, 1999). *Candida albican* yang patogen dapat membentuk hifa intraseluler (Jong *et al.*, 2001).

Morfologi koloni *Candida albican* pada medium padat *Agar Sabouraud Dekstrosa* umumnya berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus, licin dan kadang-kadang sedikit berlipat-lipat terutama pada koloni yang telah tua. Umur biakan mempengaruhi besar kecil koloni. Warna koloni putih kekuningan dan berbau asam seperti aroma tape. Dalam medium cair seperti *glucose yeast*, *extract pepton*, *Candida albican* tumbuh di dasar tabung .

Sifat-sifat *Candida albican* yang bisa dijadikan acuan identifikasi adalah jamur gram positif, terjadi fermentasi pada medium glukosa,

maltosa, dan sukrosa, terdapat pembentukan gas dalam glukosa, maltosa, dan laktosa. Secara makroskopis didapatkan koloni berwarna putih, bulat agak cembung dengan bau khas ragi. Semua sifat tersebut sesuai dengan ciri-ciri *Candida albican* murni (Hendrawati, 2008).

d. Fisiologi

Candida albican dapat tumbuh pada suhu 37°C dalam kondisi aerob atau anaerob. Pada kondisi anaerob, *Candida albican* mempunyai waktu generasi yang lebih panjang yaitu 248 menit dibandingkan dengan kondisi pertumbuhan aerob yang hanya 98 menit. Walaupun *Candida albican* tumbuh baik pada media padat tetapi kecepatan pertumbuhan lebih tinggi pada media cair dengan digoyang pada suhu 37°C. Pertumbuhan juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali (Kusumaningtyas, 2008).

e. Patofisiologi

Candida albican adalah mikroorganisme oportunistik, dapat dijumpai di seluruh badan, terutama dalam mulut, kolon, kuku, vagina, dan saluran anorektal (Harahap, 2000). Kehamilan, kontrasepsi oral, terapi antibiotik berspektrum luas, diabetes, terapi dengan steroid, *endocrinopathy*, dan faktor-faktor yang menyebabkan penurunan kekebalan tubuh dapat menyebabkan perubahan *Candida albican* menjadi patogen (Habib, 2004).

Candida albican menyerang bagian luar dari epitel mukosa dan kulit (*stratum corneum*). Jamur ini tumbuh dengan baik pada lingkungan yang hangat dan lembab, oleh karena itu biasanya infeksi terjadi di area mukosa dan lipatan-lipatan kulit. Pada umumnya pelebaran batas area infeksi terhenti ketika bertemu dengan daerah kulit yang kering, namun *Candida albican* juga dapat menyebar di dalam tubuh secara hematogen (Habif, 2004).

Tahap pertama dalam proses infeksi ke tubuh hewan atau manusia adalah perlekatan (*adhesi*). Kemampuan melekat pada sel inang merupakan tahap penting dalam kolonisasi dan penyerangan (*invasi*) ke sel inang (Kusumaningtyas, 2008). Perlekatan dan kontak fisik antara *Candida albican* dan sel inang selanjutnya mengaktifasi *mitogen activated protein kinase* (*Map-kinase*) yang diperlukan untuk pertumbuhan hifa invasif (Kumamoto, 2005).

Hifa *Candida albican* melakukan penetrasi ke dalam permukaan epitelium terutama pada *cell junction* bersamaan dengan internalisasi sel khamir. Studi dengan SEM (*Scan Electron Microscope*) menunjukkan adanya lubang pada sel epitelium terutama pada tempat hifa menginvasi sel (Javatilake, *et al.*, 2005).

f. Gambaran Klinis

Infeksi oleh *Candida albican* mengakibatkan berbagai macam gambaran klinis tergantung daerah yang diinfeksi.

1) Kandidosis Mukokutan

1) Kandidiasis oral

Kelainan ini sering terjadi pada bayi, berupa bercak putih seperti membran pada mukosa mulut atau lidah. Bila membran tersebut diangkat akan tampak dasar yang kemerahan dan erosif (Harahap, 2000).

2) Perleche

Berupa retakan kulit pada sudut mulut, terasa pedih dan nyeri bila tersentuh makanan atau air (Harahap, 2000).

3) Kandidiasis Vulvovaginal

Gambaran kandidiasis vulvovaginal adalah keluhan panas, atau iritasi pada vulva dan keputihan yang tidak berbau. Pada pemeriksaan terdapat vulvitis, dengan eritema dan edema vulva, fisura perianal, pseudomembran, dan lesi satelit di sekitarnya. Di samping itu terdapat vaginitis dan eksoservisititis baik pada pemeriksaan langsung maupun kolposkopi. Dapat terjadi koinfeksi dengan trikomoniasis maupun vaginosis bakterial (Soedarmadi, 2007).

4) Balanitis

Balanitis yang disebabkan oleh *Candida albican* biasa terjadi pada pria yang tidak disunat, dengan glans penis yang tertutup dengan preputium. Keluhan gatal disertai timbulnya membran atau bercak putih pada glans penis, yang sering seluruhnya menjadi eritem dan erosif. Bila berat disertai rasa nyeri, gatal, dan mudah berdarah (Harahap, 2000)

2) Kandidiasis kulit

1) Kandidiasis Intertriginosa

Kelainan ini sering terjadi pada orang-orang yang gemuk, menyerang lipatan-lipatan kulit yang besar, seperti di inguinal, aksila, dan lipat payudara. Ciri khasnya adalah bercak kemerahan yang cukup lebar pada lipatan kulit yang dikelilingi oleh lesi-lesi satelit. Di tengah lesi yang lebar sering terjadi erosi, sedangkan di tepinya terjadi pengelupasan kulit tanpa peninggian lesi (Habif, 2004).

2) Kandidiasis Kuku dan Paronikia

Infeksi jamur pada kuku dan jaringan di sekitarnya ini menyebabkan rasa nyeri dan peradangan di sekitar kuku (paronikia karena *Candida*). Kadang kuku rusak dan menebal. Bila terjadi infeksi ikutan oleh *Pseudomonas aeruginosa*, lesi akan berwarna kehijauan (Harahap, 2000).

3) Kandidiasis Granulomatosa

Kelainan ini merupakan bentuk yang jarang dijumpai. Manifestasi kulit berupa pembentukan granuloma yang terjadi akibat penumpukan krusta serta hipertrofi setempat. Biasanya terletak di kepala atau ekstremitas (Harahap, 2000).

3) Kandidiasis invasif

Gejala kandidiasis invasif tidak begitu spesifik. Namun, beberapa yang paling umum gejala kandidiasis invasif adalah demam dan menggigil yang tidak membaik bahkan setelah pemberian antibiotik. Seringkali kandidiasis invasif menyebar ke organ dalam seperti ginjal, hati, otot, tulang, limpa, sendi dan bahkan mata. Ketika ini terjadi, gejala bervariasi tergantung pada situs infeksi. Dalam keadaan ekstrim, jika kandidiasis invasif tidak terkendali, organ yang terinfeksi mungkin gagal dan menyebabkan kematian pasien (Yeo and Wong, 2002).

Infeksi kandidiasis invasif terjadi ketika jamur *Candida albican* memasuki darah. Hal ini terjadi ketika daya tahan tubuh pasien rendah, misalnya pada neonatus dan penderita HIV positif. Dengan makin maraknya pergaulan bebas, angka individu dengan status *immunocompromised* ini semakin tinggi, sehingga angka kejadian kandidiasis invasif juga semakin meningkat dalam beberapa tahun terakhir (Marik, 2000).

g. Pengobatan Kandidiasis

Pengobatan kandidiasis meliputi pengobatan sistemik menggunakan obat-obat yang diberikan secara oral dan pengobatan topikal. Macam-macam obat antifungal adalah sebagai berikut :

1) Derivat Azol (Imidazol dan Triazol)

Derivat imidazol merupakan obat antifungal berspektrum luas. Mekanisme kerjanya adalah dengan mengganggu sintesis komponen dinding sel jamur, yaitu dengan menghambat kerja *lanosterol 14 α -demethylase*, sitokrom P₄₅₀ yang mengubah *lanosterol* menjadi *ergosterol*. Berkurangnya *ergosterol* mengakibatkan instabilitas dan hiperpermeabilitas membran (Wolf *et al.*, 2008).

Contoh obat anti jamur derivat azol adalah ketokonazol, flukonazol, clotrimazol, itrakonazol, dan mikonazol (Bahry dan Setiabudi, 1995).

2) Derivat Alilamin dan Benzilamin

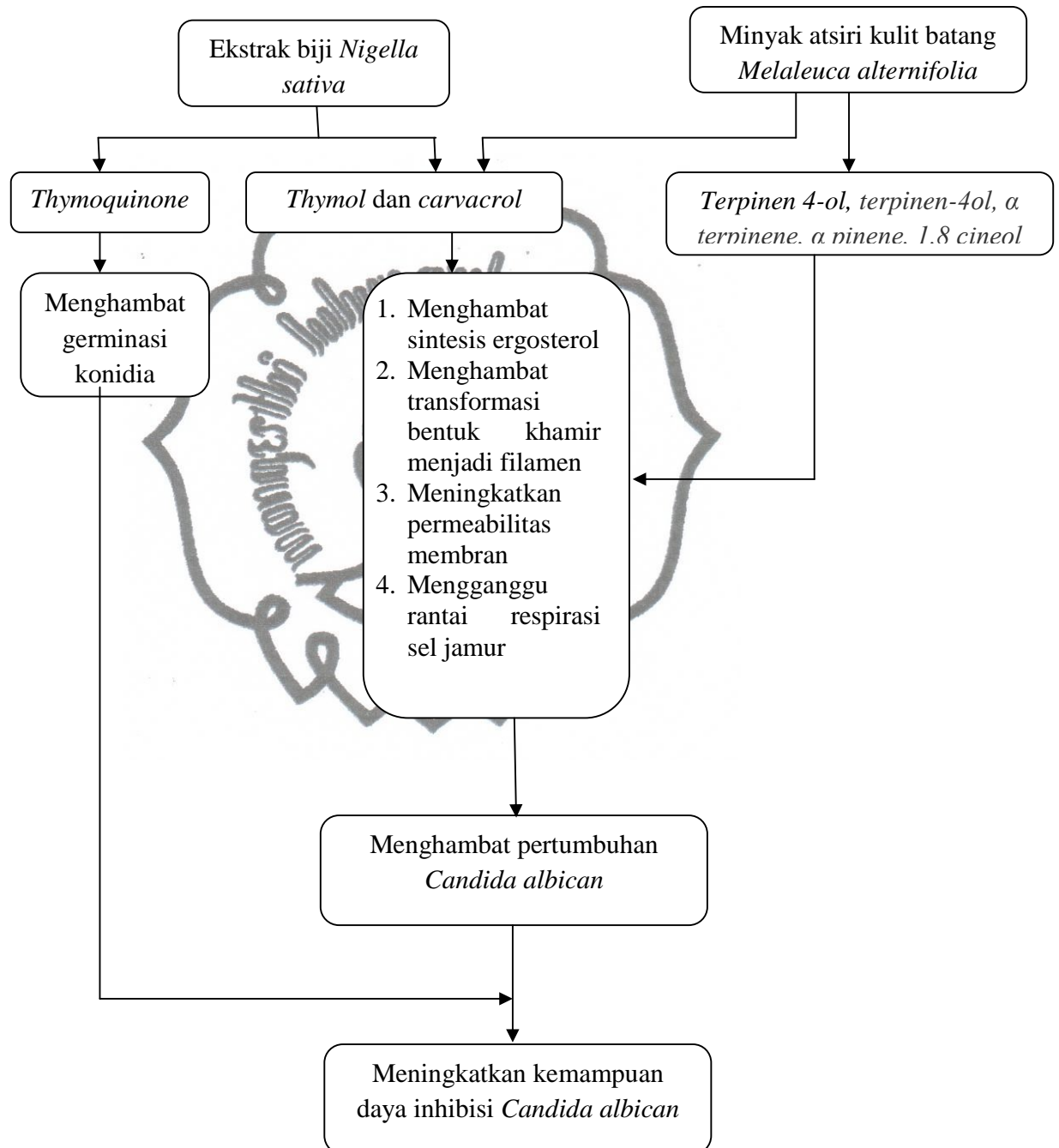
Alilamin dan benzilamin memiliki mekanisme kerja yang sama, yaitu menghambat *squalene epoxidase*. *Squalene epoxidase* ini adalah suatu enzim yang mengubah *squalen* menjadi *squalene oxide*. Aktivitas inhibisi *squalen epoxidase* ini termasuk aktivitas fungisidal, karena akumulasi *squalen* di dalam sel jamur akan menyebabkan

kematian sel secara langsung, selain itu juga akan menyebabkan hambatan dalam sintesis ergosterol (Wolf *et al.*, 2008)

Contoh obat anti jamur dari derivat alilamin adalah naftifine dan terbinafin. Sedangkan contoh obat anti jamur derivat benzilamin adalah butenafin (Odom *et al.*, 2000).

3) Golongan Polyene

Dua obat golongan *polyene* adalah nystatin dan amphotericin B. Mekanisme kerjanya adalah dengan mengikat sterol di membran sel jamur secara *irreversible*. Molekul *polyene* menunjukkan adanya afinitas yang lebih tinggi terhadap sterol dari sel jamur daripada sterol yang berasal dari tubuh manusia. Namun hasil penelitian menunjukkan toksisitas selektif obat golongan ini kurang sempurna, karena molekul *polyene* masih bisa mengikat sterol dari membran sel manusia (Wolf *et al.*, 2008).

B. Kerangka Pemikiran**Gambar 4.** Skema Kerangka Pemikiran

C. Hipotesis

Kombinasi *Tea tree oil* (*Melaleuca alternifolia*) dengan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) mampu menghambat pertumbuhan *Candida albican* *In vitro*



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

C. Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Agustus-Oktober 2010.

D. Obyek Penelitian

Obyek penelitian yang digunakan adalah biakan *Candida albican* murni dengan morfologi bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus, licin dan sedikit berlipat-lipat terutama pada koloni yang telah tua. Warna koloni putih kekuningan dan berbau asam seperti aroma tape. Dengan pengecatan Gram menunjukkan warna ungu (Gram positif) dan memperlihatkan reaksi fermentasi dan gas pada glukosa dan maltosa, serta terjadi proses fermentasi tanpa menghasilkan gas pada sukrosa (Hendrawati, 2008). Biakan *Candida albican* murni ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta

Ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) diperoleh dari B2P2TO2T Tawangmangu dan TTO diperoleh dari Farizlab Yogyakarta.

E. Teknik Sampling

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *Random Sampling* (Utarini dan Trisnantoro, 2000). Sampel yang dipilih adalah biakan *Candida albican* yang berumur 4 hari (Javatilake *et al.*, 2005). Koloni *Candida albican* diambil dari beberapa tempat secara random untuk diencerkan dengan NaCl 0,9 % sampai kekeruhannya ekuivalen dengan standardisasi 0,5 Mc Farland.

F. Identifikasi Variabel

1. Variabel bebas : Konsentrasi ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) dan TTO
2. Variabel tergantung : Ukuran diameter zona hambatan pertumbuhan *Candida albican*.
3. Variabel luar :
 - a. Variabel luar terkendali
 - 1) Umur biakan
 - 2) Jumlah biakan
 - 3) Suhu pengamatan
 - 4) Tumbuhnya kuman lain
 - 5) Volume pengenceran
 - 6) Waktu pengamatan
 - b. Variabel luar tak terkendali
Kecepatan tumbuh *Candida albican*

G. Skala Variabel

1. Konsentrasi TTO

Skala interval

2. Konsentrasi ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*)

Skala interval

3. Efek antijamur (diameter zona hambatan)

Skala rasio

H. Definisi Operasional Variabel

1. Konsentrasi TTO

TTO yang digunakan diperoleh dari Farizlab dengan metode destilasi uap. TTO kemudian diencerkan dengan seri pengenceran yang berbeda-beda menggunakan alkohol 70% sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 10%, 25%, 50%, 75%, dan konsentrasi 100% yang merupakan konsentrasi murni larutan minyak atsiri. Dari hasil uji pendahuluan didapatkan hasil konsentrasi TTO yang akan digunakan dalam tahap penelitian adalah 50%.

2. Konsentrasi ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*)

Ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) yang digunakan diperoleh dari B2P2TO2T Tawangmangu dengan metode perkolasi. Ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) kemudian diencerkan dengan seri pengenceran yang bertingkat menggunakan alkohol 70%, sehingga didapatkan larutan ekstrak dengan konsentrasi 10%, 25%, 50%, 75%, dan konsentrasi 100% yang

commit to user

merupakan konsentrasi murni larutan ekstrak. Dari hasil uji pendahuluan didapatkan hasil konsentrasi ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) yang digunakan dalam tahap penelitian sebesar 50%.

3. Efek Antijamur (Diameter Zona Hambatan)

Efek antijamur adalah efek yang ditimbulkan oleh obat atau zat antijamur dengan manifestasi berupa diameter zona hambatan. Diameter zona hambatan adalah diameter hambatan pertumbuhan *Candida albican* yang terbentuk di sekeliling sumuran. Diameter yang diukur termasuk diameter sumuran yang digunakan untuk meletakkan ekstrak yang berukuran 6mm.

4. Variabel Luar yang Terkendali

a. Umur biakan *Candida albican*

Umur jamur dapat dikendalikan dengan memilih biakan *Candida albican* pada *Saboraud Dextrose Agar* yang berumur 3 hari, karena proses pertumbuhan *Candida albican* hingga terbentuknya koloni yang matur memakan waktu kurang lebih selama 24-48 jam (Kusumaningtyas, 2008).

b. Jumlah koloni

Jumlah *Candida albican* dapat dikendalikan dengan menanam jamur dengan menggunakan pengenceran yang ekuivalen dengan standar 0,5 Mc Farland. (May *et al.*, 2000).

c. Tumbuhnya kuman lain

Untuk mengendalikan tumbuhnya kuman maka pada *Saboroud Dextrose Agar* ditambahkan kloramfenikol dengan dosis 400 gr/l.

commit to user

d. Suhu pengeraman

Pembenihan jamur disimpan pada inkubator dengan suhu pengeraman 35°C (Hammer *et al.*, 1998).

5. Variabel luar yang tak terkendali

Kecepatan pertumbuhan *Candida albican* merupakan variabel luar yang tidak dapat dikendalikan karena pertumbuhan dipengaruhi oleh banyak faktor, misalnya fluktuasi suhu kamar, sebaran koloni, dan lain-lain.

I. INSTRUMEN PENELITIAN

1. Bahan

- a. *Saboroud Dextrose Agar* (SDA)
- b. Biakan *Candida albican*
- c. TTO
- d. Ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*)
- e. Etanol 70%
- f. Kapsul flukonazol
- g. Kapsul kloramfenikol

2. Alat

- a. Cawan petri dengan diameter 10 cm
- b. Osche kolong
- c. Autoclave
- d. Inkubator
- e. Pipet ukur

- f. Pipet mikro
- g. Bunsen
- h. Tabung reaksi
- i. Pembuat lubang
- j. Jangka sorong

J. Cara Kerja Penelitian

1. Tahap persiapan

a. Pembuatan TTO

- 1) Bahan baku dikeringkan, kemudian dipotong kecil-kecil supaya saat proses penyulingan minyak mudah keluar.
- 2) Bahan baku dimasukkan dalam tangki pemanas hingga 75 % volume tangki.
- 3) Air dipanaskan hingga mendidih. Air dan uap panas meresap ke dalam sel-sel bahan baku.
- 4) Uap air panas dan minyak mengalir melalui pipa yang direndam air dingin menuju tabung kondensator.
- 5) Karena pipa dingin, maka uap air dan uap minyak panas mengembun kembali ke bentuk cair.
- 6) Minyak dan air terpisah karena perbedaan berat jenis air dan minyak.
- 7) Air yang terpisah dialirkan kembali ke tangki pemanas.
- 8) Untuk penyulingan batang tekanan dipertahankan 2 bar setelah 4 jam (Ismawan, 2009).

Pembuatan TTO akan dilaksanakan di Farizlab Yogyakarta.

b. Pembuatan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*)

- 1) Biji jinten hitam diserbuk dengan mesin penyerbuk dengan saringan diameter lubang 1mm.
- 2) Kemudian serbuk biji tersebut ditambahkan etanol 70% diaduk selama 30 menit diamkan 24 jam lalu disaring. Proses ini dilakukan 3 kali.
- 3) Ampas dan filtratnya dipisah. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator*, pemanas *water bath* dengan suhu 70° C.
- 4) Dari proses di atas diperoleh ekstrak, yang kemudian dituangkan ke dalam cawan porselin dipanaskan dengan pemanas *water bath* sambil terus diaduk.
- 5) Setelah itu didapatkan ekstrak biji jinten hitam yang sudah jadi.

Pembuatan ekstrak akan dilaksanakan di B2P2TO2T Tawangmangu.

c. Penanaman *Candida albican*

Biakan jamur diidentifikasi terlebih dahulu dengan cara

- 1) Pemeriksaan mikroskopis : Dilakukan pengecatan Gram pada bahan pemeriksaan, lalu dilihat di bawah mikroskop, jamur ini memberikan warna ungu karena bersifat Gram positif, bentuk oval dan pada beberapa sel jamur terlihat adanya tunas.
- 2) Dilakukan pemeriksaan Gram dan uji fermentasi terhadap bahan pemeriksaan pada perbenihan karbohidrat (glukosa, maltosa, sukrosa, laktosa) yang telah ditambahkan *fenol red* sebagai indikator. Perubahan

commit to user

warna merah dari indikator *fenol red* menjadi kuning menunjukkan terbentuknya asam pada reaksi fermentasi tersebut.

- 3) Untuk mengetahui pembentukan gas digunakan tabung Durham yang diletakkan secara terbalik dalam tabung reaksi. Gas yang terbentuk akan tampak sebagai ruang kosong pada tabung Durham. Identifikasi *Candida albicans* diambil berdasarkan reaksi fermentasi karbohidrat dan terbentuknya gas dalam tabung Durham

Dari proses di atas didapatkan sifat-sifat jamur gram positif, terjadi fermentasi pada medium glukosa, maltosa, dan sukrosa, terdapat pembentukan gas dalam glukosa, maltosa, dan laktosa. Secara makroskopis didapatkan koloni berwarna putih, bulat agak cembung dengan bau khas ragi. Semua sifat tersebut sesuai dengan ciri-ciri *Candida albicans* murni (Hendrawati, 2008).

Setelah *Candida albicans* murni didapatkan, dilakukan pembiakan subkultur pada media *Saboraud Dextrose Agar* selama minimal 48 jam. Setelah itu subkultur *Candida albicans* siap digunakan dalam tahap selanjutnya.

d. Pembuatan larutan Flukonazol dengan dosis 25 µg

Flukonazol yang digunakan berupa kapsul dengan merek dagang Diflucan yang mengandung 50 mg flukonazol. Hasil penelitian (Sun *et al.*, 2003) menunjukkan bahwa flukonazol pada konsentrasi 25 µg optimal

untuk menghambat pertumbuhan spesies *Candida* secara *In vitro*, sehingga dalam penelitian ini digunakan dosis tersebut. Untuk mendapatkan dosis flukonazol 25 µg, digunakan perhitungan sebagai berikut:

$$\begin{array}{rcl}
 N1. & 1 & N2. & 2 \\
 25 \mu g. & 1 & 50 mg. & 0,05 ml \\
 1 & & \frac{50.000 \mu g. 0,05 ml}{25 \mu g} \\
 V1 & = & 100 ml
 \end{array}$$

e. Pembuatan media agar dari *Saboraud Dextrose Agar* (SDA)

Pembuatan media agar dari *Saboraud Dextrose Agar* menurut Bridson (1998) adalah sebagai berikut:

- 1) Setiap 19,5 gram *Saboraud Dextrose Agar* bubuk ditambahkan dengan 300 ml aquades, diaduk kemudian dipanaskan.
- 2) Larutan kloramfenikol ditambahkan dalam *Saboraud Dextrose Agar* cair untuk mencegah tumbuhnya kuman kontaminan. Setiap 1000 ml *Seboraud Dextrose Agar* cair dibutuhkan 400 mg kloramfenikol. Sehingga kloramfenikol yang diperlukan untuk 300 ml *Saboraud Dextrose Agar* adalah:

$$\frac{300 ml}{1000} \times 400 mg = 120 mg$$

commit to user

Setiap 250 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 10 ml NaCl 0,9%, maka NaCl yang diperlukan adalah:

$$\frac{120 \text{ mg}}{250 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 4,8 \text{ ml}$$

- 3) *Saboraud Dextrose Agar* cair disterilkan dengan autoklaf pada suhu 120° C bersama peralatan penelitian lain yang akan digunakan.
- 4) *Saboraud Dextrose Agar* cair dituang ke dalam 10 buah cawan petri yang telah disterilkan dan dibiarkan dingin.
- 5) Setelah itu dibuat 5 sumuran pada masing-masing cawan petri dengan diameter 6 mm.

2. Tahap Penelitian Pendahuluan

a. Penanaman *Candida albican*

Biakan subkultur *Candida albican* diambil dengan menggunakan osche steril ke dalam larutan NaCl 0,9% sampai mencapai kekeruhan yang ekuivalen dengan standar 0,5 Mc Farland. Kemudian 0,2 ml sampel cair *Candida albican* dituang ke masing-masing cawan petri yang berisi *Saboraud Dextrose Agar*. Cawan petri digoyang untuk meratakan koloni.

- b. TTO diencerkan dengan etanol 70 % dengan konsentrasi 10%, 25%, 50%, 75%, dan 100%. Perlakuan yang sama juga diberikan pada ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*).

- c. Setiap seri konsentrasi dibuat 3 sumuran. Lima cawan pertama diisi dengan TTO yang telah diencerkan dalam berbagai konsentrasi yang telah disebut di atas. Lima cawan berikutnya untuk ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*).
- d. Untuk kontrol negatif dibuat 3 sumuran yang masing-masing diisi dengan 0,05 ml etanol 70 %.
- e. Untuk kontrol positif dibuat 3 sumuran yang masing-masing diisi dengan 0,05 ml flukonazol 25 µg.
3. Tahap Penelitian
- a. Penentuan Besar Ulangan

Penentuan besar ulangan dihitung dengan rumus Federer

$$1 \quad 1 \quad 15$$

Keterangan:

n = besar ulangan

t = jumlah kelompok perlakuan

Karena penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan, maka:

$$1 \quad 1 \quad 15$$

$$1 \quad 5 \quad 1 \quad 15$$

$$1 \quad \frac{15}{4}$$

$$3,75 \quad 1$$

$$4,75$$

commit to user

Dari perhitungan di atas, setiap kelompok minimal harus memiliki besar ulangan (sampel) sebanyak 5 sampel. Pada penelitian ini akan digunakan 6 sampel untuk masing-masing kelompok.

b. Pembuatan media *Saboraud Dextrose Agar*

Pembuatan media *Saboraud Dextrose Agar* dilakukan dengan cara yang sama seperti pada tahap uji pendahuluan.

c. Penanaman *Candida albican*

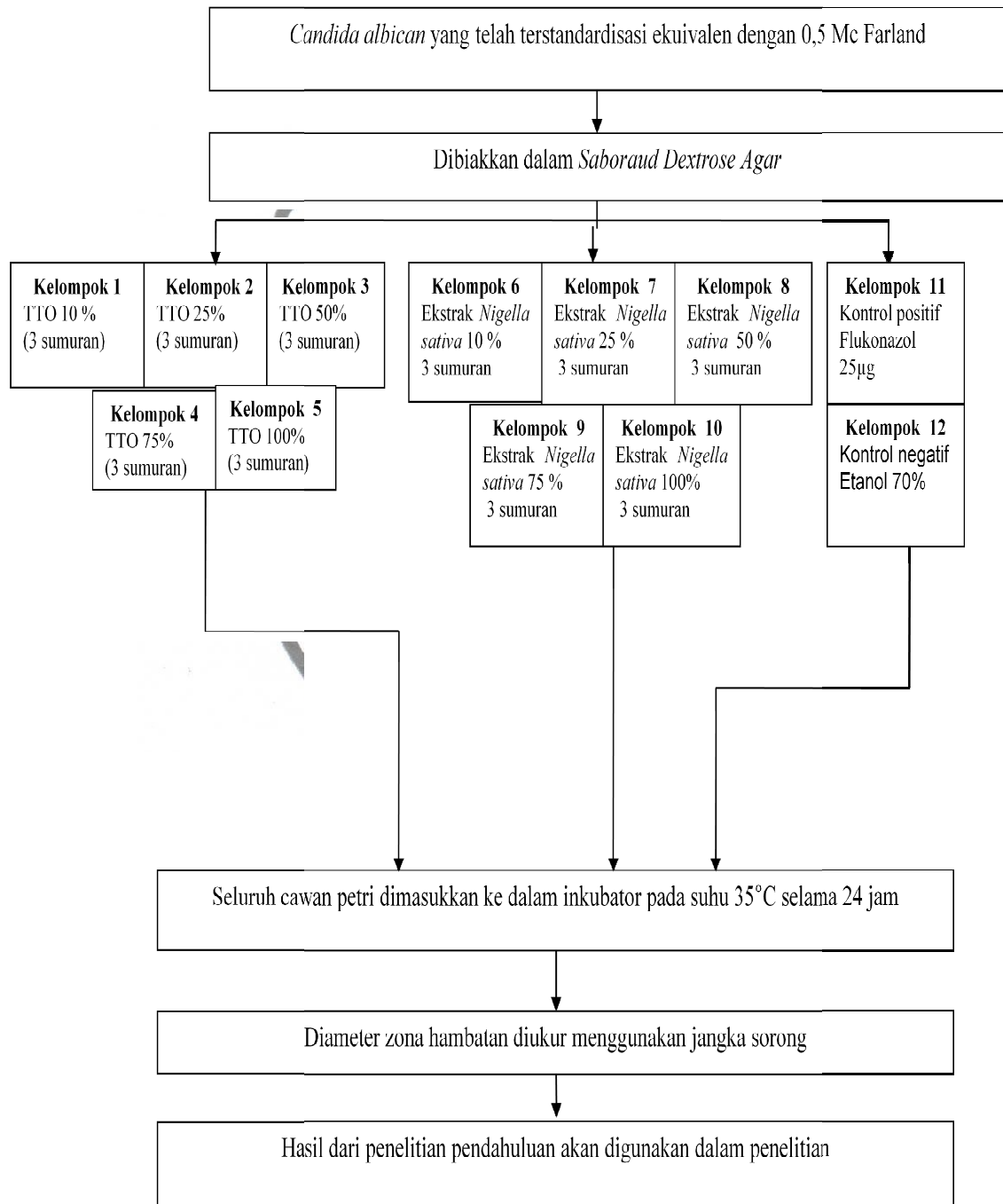
- 1) Penanaman *Candida albican* dilakukan dengan cara yang sama seperti pada tahap uji pendahuluan. *Saboraud Dextrose Agar* yang sudah jadi kemudian dilubangi, sehingga tiap SDA terdapat 4 sumuran.
- 2) TTO dicampurkan dengan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) dengan perbandingan 1:1 masing-masing 1 ml, sehingga didapatkan konsentrasi kombinasi minyak atsiri dan ekstrak masing-masing 50% dalam satu larutan. Untuk membantu proses pencampuran keduanya ditambahkan emulgator Tween 80.
- 3) Masing-masing sumuran pada *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) diisi dengan 0,05 ml etanol 70% sebagai kontrol negatif, 0,05 ml TTO 50%, 0,05 ml ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) 50%, 0,05 ml larutan kombinasi TTO dan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*), dan 0,05 ml larutan flukonazol 25µg sebagai kontrol positif. Setiap kelompok perlakuan diuji dalam 6 sumuran.

- 4) Semua cawan petri kemudian dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 35°C selama 24 jam.
- 5) Zona jernih yang terbentuk di sekeliling sumuran diukur dengan jangka sorong.



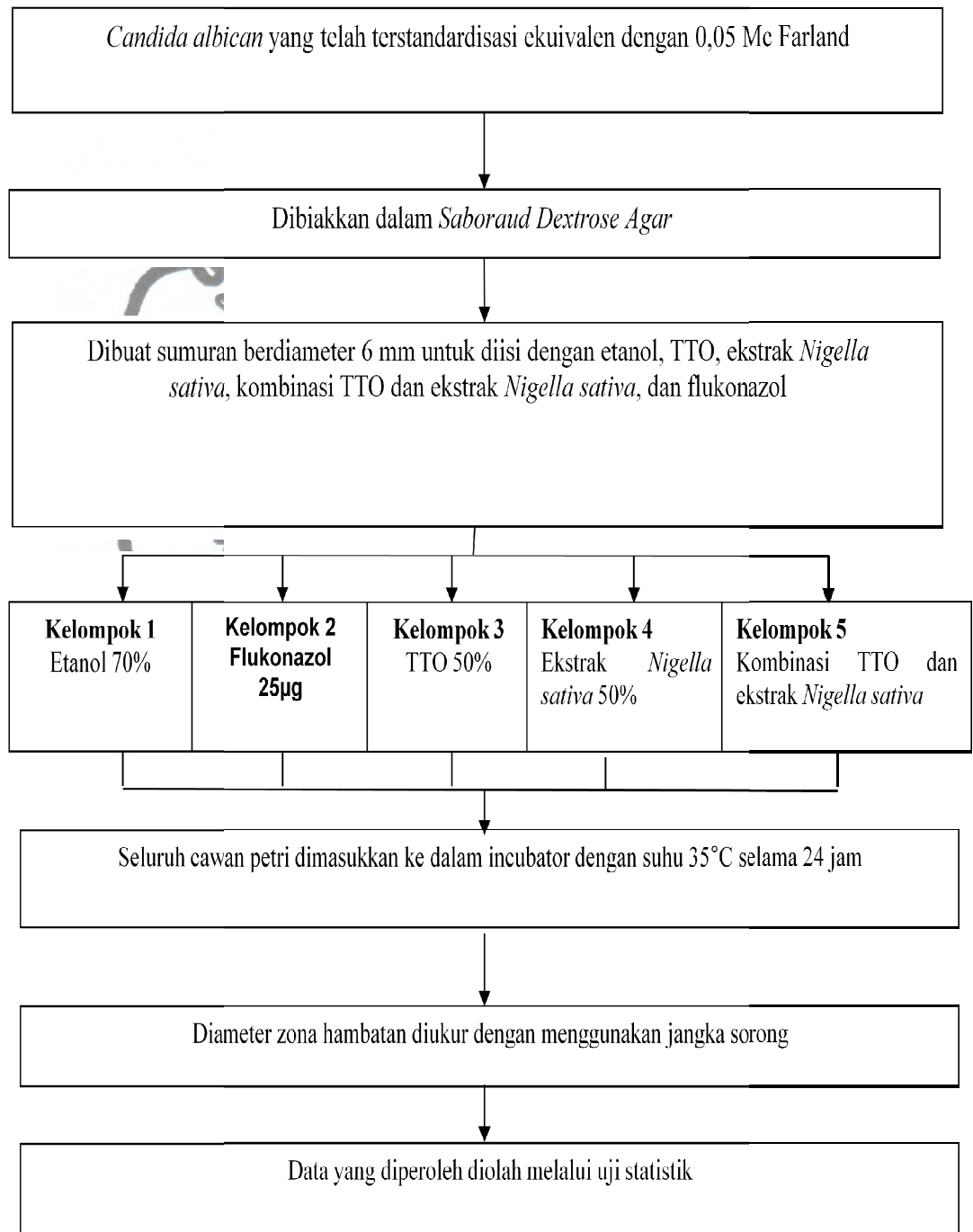
K. Desain Penelitian

1. Tahap Uji Pendahuluan



Gambar 5. Skema Alur Kerja Tahap Uji Pendahuluan

2. Tahap Penelitian



Gambar 6. Skema Alur Kerja Tahap Penelitian

commit to user

L. Teknik Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan membandingkan diameter zona hambat di sekeliling sumuran yang menggambarkan efek antijamur kombinasi TTO (*Melaleuca alternifolia*) dengan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) terhadap kontrol positif, TTO, serta ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*). Dalam penelitian ini data diolah menggunakan uji statistic parametrik yaitu *One Way ANOVA* kemudian dilanjutkan dengan *Post Hoc Test LSD*. Uji *ANOVA* dilakukan untuk membandingkan rata-rata diameter kelima kelompok sekaligus sehingga dapat diketahui apakah kelima kelompok perlakuan memiliki rata-rata diameter zona hambatan yang berbeda secara signifikan atau tidak. Untuk membandingkan perbedaan antara masing-masing kelompok diuji dengan *LSD*. Jika data tidak memenuhi syarat untuk menggunakan uji *ANOVA*, maka data akan diolah dengan uji nonparametrik, yakni uji *Kruskall-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Data akan diolah dengan menggunakan *Statistical Product and Services Sollution (SPSS) 18.0*.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil Uji Pendahuluan

Tabel 2. Diameter Zona Hambatan Hasil Uji Pendahuluan

No.	Perlakuan	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-Rata (mm)
1.	Etanol 70%	0	0	0	0
2.	Flukonazol	19,3	20,4	21,1	20,2
3.	TTO 10%	9,2	11,7	12,4	11,1
4.	TTO 25%	12,3	14,6	15,8	14,23
5.	TTO 50%	18,4	20,6	21,5	20,12
6.	TTO 75%	22,2	25,4	25,1	24,23
7.	TTO100%	25,9	27,6	26,4	26,63
8.	Ekstrak <i>Nigella sativa</i> 10%	8,5	10,4	11,2	10,03
9.	Ekstrak <i>Nigella sativa</i> 25%	12,7	11,3	15,4	13,13
10.	Ekstrak <i>Nigella sativa</i> 50%	18,6	20,1	17,9	18,87
11.	Ekstrak <i>Nigella sativa</i> 75%	22,5	21,7	20,1	21,43
12.	Ekstrak <i>Nigella sativa</i> 100%	23,8	25,5	27,3	25,53

Dari hasil uji pendahuluan ditetapkan konsentrasi TTO, konsentrasi ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) yang akan dikombinasikan pada tahap penelitian. Penetapan konsentrasi itu berdasarkan perbandingan diameter zona hambatan dari TTO dan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) pada berbagai konsentrasi dibandingkan dengan diameter hambatan yang dihasilkan dengan

menggunakan preparat obat standar, yakni flukonazol 25 µg. Konsentrasi TTO dan ekstrak biji jinten hitam yang digunakan adalah 50%, karena pada konsentrasi tersebut diameter zona hambatan yang terbentuk hampir sama dengan diameter zona hambatan yang dihasilkan oleh flukonazol 25 µg.

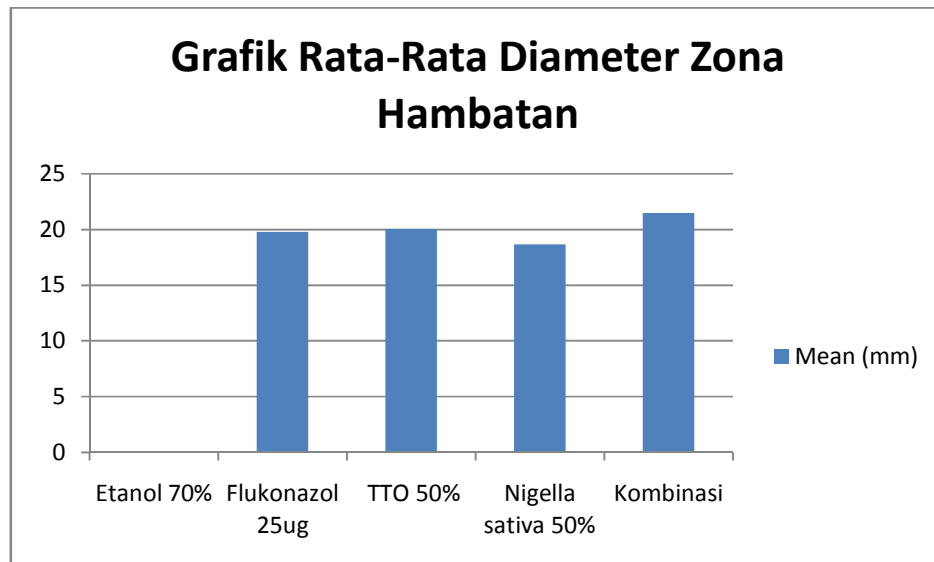
2. Data Hasil Penelitian

Setelah dilakukan penelitian mengenai efek kombinasi TTO dengan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Candida albican* secara *in vitro*, maka didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 3. Diameter Zona Hambatan Tahap Penelitian

Perlakuan	Zona Hambatan yang Terbentuk (mm)						Mean (mm)
	I	II	III	IV	V	VI	
Etanol 70%	0	0	0	0	0	0	0
Flukonazol	19,4	19,3	18,1	21,2	20,3	20,5	19,8
TTO 50%	19,3	21,4	18,7	19,5	20,3	21,1	20,05
<i>Nigella sativa</i> 50%	19,3	17,8	18,5	20,1	17,2	19,1	18,67
Kombinasi TTO + <i>Nigella sativa</i>	21,6	20,8	21,2	22,1	21,5	21,7	21,48

Dari tabel 3 kemudian dibuat grafik yang menggambarkan rata-rata diameter zona hambatan pada masing-masing kelompok perlakuan.



Grafik 1. Diagram Rata-Rata Diameter Zona Hambatan

Pada grafik di atas dapat dilihat adanya perbedaan rata-rata (*mean*) diameter zona hambatan yang menunjukkan perbedaan efek antijamur pada masing-masing kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan dengan menggunakan etanol 70% (kontrol negatif) tidak terdapat zona hambatan, hal ini menunjukkan bahwa etanol 70% tidak mempunyai efek antijamur. Sedangkan kelompok perlakuan dengan menggunakan flukonazol 25 μ g (kontrol positif) terdapat rata-rata diameter zona hambatan 19,8 mm yang menunjukkan adanya efek antijamur. Pada kelompok perlakuan dengan kombinasi diperoleh rata-rata diameter zona hambatan 21,48 mm. Sedangkan kelompok perlakuan dengan TTO 50% dan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) 50% masing-masing menunjukkan rata-rata diameter zona hambatan 20,05 mm dan 18,67mm.

B. Analisis Data

Data hasil penelitian yang berupa diameter zona hambatan dianalisis dengan analisis nonparametrik, yakni uji *Kruskal Wallis* yang kemudian dilanjutkan dengan uji beda nonparametrik yaitu uji *Mann Whitney*. Data diolah dengan program *Statistical Product and Service Solution (SPSS) 18.0 for Windows*.

1. Uji Kruskal Wallis

Tabel 4. Hasil Perhitungan Uji Kruskal Wallis

Ranks			
Perlakuan		N	Mean Rank
Zona Hambatan	Etanol 70%	6	3.50
	Flukonazol 25ug	6	17.33
	TTO 50%	6	18.42
	Ekstrak <i>Nigella sativa</i> 50%	6	11.50
	Kombinasi TTO dan <i>Nigella sativa</i>	6	26.75
	Total	30	

Test Statistics ^{a,b}	
	Zona Hambatan
Chi-square	23.317
df	4
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Dari kedua tabel statistik di atas, diperoleh nilai *Asym. Significant* $p=0,000$. Oleh karena nilai $p < 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat

perbedaan diameter zona hambatan yang signifikan dari kelima kelompok perlakuan.

2. Uji Mann Whitney

Dari hasil uji Kruskal Wallis didapatkan adanya perbedaan diameter zona hambatan dari lima kelompok, untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan maka harus dilakukan analisis Mann Whitney (hasil analisis selengkapnya dapat dilihat pada lampiran).

Tabel 5. Hasil Perbandingan Data Antarkelompok Perlakuan

Kelompok yang dibandingkan	$\alpha = 0,05$	P _{value}
(1)+(2)	0,002	Signifikan
(1)+(3)	0,002	Signifikan
(1)+(4)	0,002	Signifikan
(1)+(5)	0,002	Signifikan
(2)+(3)	0,748	Tidak signifikan
(2)+(4)	0,065	Tidak signifikan
(2)+(5)	0,008	Signifikan
(3)+(4)	0,045	Signifikan
(3)+(5)	0,016	Signifikan
(4)+(5)	0,004	Signifikan

Keterangan kelompok:

(1) : Etanol 70%

(2) : Flukonazol 25 μ g

(3) : TTO 50%

(4) : Ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) 50%

(5) : Kombinasi TTO dan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*)

Dengan uji Mann Whitney yang dapat dilihat pada tabel di atas:

- a. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok 1 (yang diberikan etanol 70%) dengan kelompok 2-5 dengan $p < 0,05$. Artinya kelompok 1 secara statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna jika dibandingkan dengan semua kelompok.
- b. Pada kelompok 2 (Flukonazol 25 μ g) yang dibandingkan dengan kelompok yang lain menunjukkan nilai $p > 0,05$, kecuali bila dibandingkan dengan kelompok 1 dan 5 (kombinasi TTO dan ekstrak *Nigella sativa*). Artinya tidak ada perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok 3, 4. Tetapi bila dibandingkan dengan kelompok kombinasi terdapat perbedaan yang signifikan.
- c. Pada Kelompok 3 (TTO 50%) tidak ada perbedaan yang bermakna bila kelompok 2 (Flukonazol 25 μ g). yang tampak dari $p > 0,05$. Sedangkan bila dibandingkan dengan kelompok 5 (Kombinasi TTO dan ekstrak *Nigella sativa*) menunjukkan perbedaan bermakna dengan $p < 0,05$. Sehingga H_0 ditolak. Artinya terdapat perbedaan rata-rata diameter zona hambatan antara kelompok yang dibandingkan, yaitu TTO 50% dengan kombinasi TTO dan ekstrak *Nigella sativa*, signifikan.
- d. Hasil kelompok 4 (ekstrak *Nigella sativa* 50%) menunjukkan perbedaan yang bermakna bila dibandingkan dengan kelompok 5 (kombinasi TTO dan ekstrak *Nigella sativa*).

- e. Hasil kelompok lima (kombinasi TTO dan ekstrak *Nigella sativa*) menunjukkan perbedaan yang signifikan bila dibandingkan dengan Kelompok 3 (TTO 50%) dan kelompok 4(ekstrak *Nigella sativa*), sehingga H_0 ditolak.



BAB V

PEMBAHASAN

Pada tahap persiapan sebelum penelitian dilakukan uji pendahuluan yang bertujuan untuk menentukan konsentrasi TTO dan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) yang akan dikombinasikan pada tahap penelitian. Pada uji pendahuluan, konsentrasi TTO dan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) dibuat dalam 5 seri konsentrasi, yaitu 10%, 25%, 50%, 75%, 100%. Diameter zona hambatan dapat dilihat pada tabel 2.

Sebelum dilakukan pengukuran diameter zona hambatan, diidentifikasi morfologi biakan *Candida albican* untuk menghindari kesalahan uji. Jamur yang dibiakkan memperlihatkan ciri-ciri morfologi bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus, licin dan sedikit berlipat-lipat terutama pada koloni yang telah tua. Warna koloni putih kekuningan dan berbau asam seperti aroma tape. Dengan pengecatan Gram menunjukkan warna ungu (gram positif) dan memperlihatkan reaksi fermentasi dan gas pada glukosa dan maltosa, serta terjadi proses fermentasi tanpa menghasilkan gas pada sukrosa (Hendrawati, 2008).

Karena sebelumnya belum pernah dilakukan penelitian mengenai konsentrasi dari TTO dan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) yang optimal untuk dikombinasikan, maka data hasil uji pendahuluan dibandingkan dengan data diameter zona hambatan flukonazol 25µg yang dilakukan juga pada uji pendahuluan.

Perbandingan awal ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi TTO dan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) yang akan dikombinasikan pada tahap penelitian sehingga dari konsentrasi tersebut diharapkan terbentuk zona hambatan yang setara atau lebih baik dari flukonazol 25 μ g. Berdasarkan data uji pendahuluan, konsentrasi kombinasi yang diambil untuk penelitian adalah 50%.

Pada kelompok pertama diberi perlakuan etanol 70% sebagai kontrol negatif. Hal ini bertujuan untuk mengetahui bahwa etanol 70% tidak memiliki efek antifungi terhadap *Candida albican*. Hasil penelitian menunjukkan tidak terbentuk diameter zona hambatan dan *Candida albican* tumbuh dengan baik di sekitar sumuran. Hal ini berarti etanol 70% tidak memiliki efek antifungi terhadap *Candida albican*.

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini menggunakan larutan flukonazol 25 μ g yang telah terbukti menghambat pertumbuhan jamur *Candida albican* (Sun *et al.*, 2009).

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan diameter zona hambatan yang signifikan pada 5 kelompok perlakuan maka dilakukan analisis statistik. Uji pertama yang dilakukan adalah uji normalitas data dan homogenitas data untuk menentukan apakah data akan diolah dengan uji statistik parametrik atau nonparametrik. Syarat yang harus dipenuhi untuk mengolah data dengan uji statistik parametrik adalah varian data harus normal dan data yang diperoleh harus homogen (Dahlan, 2008). Hal ini sesuai dengan tes normalitas data (yang dapat dilihat di lampiran) dengan

menggunakan uji Shapiro Wilk dan tes homogenitas data dengan ANOVA. Uji normalitas data menunjukkan signifikansi $> 0,05$, yang artinya data tersebut normal. Sedangkan uji homogenitas data menunjukkan signifikansi $< 0,05$, yang artinya data tersebut tidak homogen. Dengan demikian data diolah dengan uji statistik nonparametrik Kruskal Wallis. Berdasarkan hasil analisis data pada bab IV, yakni pada tabel 4 menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata diameter zona hambatan yang signifikan (ada perbedaan yang bermakna) dengan *Asymp. Sig.* $< 0,05$. Dengan kata lain, setiap kelompok memiliki perbedaan yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan *Candida albican* secara *In vitro*.

Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dengan kelompok lain maka dilakukan uji Mann Whitney (Riwidikdo, 2008) yang dapat dilihat pada tabel 5. Pada tabel tersebut tampak kelompok perlakuan 2 (flukonazol 25 μg) menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan dengan kelompok perlakuan 3 (TTO 50%) dan 4 (ekstrak *Nigella sativa* 50%). Hal ini menunjukkan baik minyak atsiri kulit batang kayu putih 50% dan ekstrak *Nigella sativa* 50% memiliki kemampuan menghambat *Candida albican* yang setara dengan flukonazol 25 μg .

Kelompok perlakuan 5 (kombinasi TTO dan ekstrak *Nigella sativa*) menunjukkan hasil yang berbeda secara signifikan dengan kelompok TTO 50% dan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) 50%. Artinya kombinasi TTO dan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) memiliki daya hambat yang lebih baik daripada TTO

50% dan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) 50% yang tidak dikombinasikan. Selain itu kelompok perlakuan 5 (kombinasi TTO dan ekstrak *Nigella sativa*) juga menunjukkan adanya perbedaan signifikan bila dibandingkan dengan flukonazol 25 μ g, yang artinya kombinasi kedua tanaman herbal ini lebih baik dari flukonazol 25 μ g.

Kemampuan TTO untuk menghambat pertumbuhan *Candida albican* tersebut disebabkan oleh adanya kandungan zat aktif utama *monoterpen*, *sesquiterpen*, dan turunan senyawa aromatik yang diduga menyebabkan peningkatan permeabilitas sel dan menghambat penurunan pH lingkungan (Hammer *et al.*, 2004). Berdasarkan penelitian Paduch *et al.* (2007), mekanisme antijamur dari senyawa-senyawa ini kurang lebih sama, yaitu mempengaruhi struktur membran, meningkatkan permeabilitas membran, dan mengganggu struktur protein membran karena mampu menghambat sintesis ergosterol. Selain itu mekanisme antijamur dari senyawa-senyawa tersebut juga dengan mengganggu rantai respirasi sel jamur dan menghambat transformasi dari bentuk *yeast* menjadi filamen.

Hammer *et al.* (2004) juga menyebutkan komponen minyak atsiri kulit batang *Melaleuca alternifolia* yang paling kuat menghambat pertumbuhan *Candida albican* adalah *terpinen 4-ol*, *terpinen 4-ol* ini merupakan komponen yang paling banyak dalam TTO.

Sedangkan kemampuan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) untuk menghambat pertumbuhan *Candida albican* disebabkan adanya kandungan *thymol* dan *carvacrol* yang merupakan salah satu senyawa golongan *terpene* dengan mekanisme antijamur serupa dengan senyawa aktif TTO.

Namun pada ekstrak biji jinten hitam terdapat *thymoquinon* yang mampu menghambat germinasi konidia. *Thymoquinon* ini tidak terdapat dalam TTO. Setelah minyak atsiri kulit batang kayu putih dikombinasikan dengan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) ternyata menghasilkan kemampuan menghambat pertumbuhan *Candida albican* yang lebih baik. Hal ini kemungkinan karena penambahan senyawa aktif *terpene* dan persenyawaannya serta adanya komponen tambahan *thymoquinon* yang turut membantu dalam menghambat pertumbuhan *Candida albican*.

Mekanisme antijamur flukonazol sebagai obat antijamur lebih dahulu diketahui dan dipahami, yakni melalui penghambatan enzim yang bergantung pada sitokrom P-450 yang akan mencegah konversi *lanosterol* ke *ergosterol* sehingga jumlah *ergosterol* yang terbentuk akan berkurang. Pengurangan *ergosterol* yang merupakan komponen utama membran sel jamur akan menyebabkan kerusakan membran sel (Loeffler and Steven, 2002).

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

1. Penambahan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) meningkatkan potensi antijamur minyak atsiri kulit batang kayu putih (*Melaleuca alternifolia*) atau TTO terhadap pertumbuhan *Candida albican*.
2. Peningkatan potensi antijamur minyak atsiri kulit batang kayu putih (*Melaleuca alternifolia*) tersebut lebih baik dari flukonazol 25µg.

B. Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut yang serupa dengan sampel, kontrol, konsentrasi kombinasi, dan metode yang berbeda untuk dapat memperoleh hasil yang terperinci mengenai pengaruh kombinasi dari minyak atsiri kulit batang kayu putih (*Melaleuca alternifolia*) dan ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *Candida albican*.
2. Mekanisme potensiasi kedua obat tersebut belum sepenuhnya diketahui, sehingga diperlukan penelitian secara mendalam lebih lanjut.
3. Dalam rangka aplikasi hasil ini terhadap manusia, maka diperlukan uji lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas dan toksisitas sehingga dapat diketahui kebenaran dan keamanan khasiatnya.